

哺乳動物細胞新規プロテインホスファターゼ 2C (PP2C)の単離と機能解析

著者	小牧 健一郎
号	28
学位授与番号	247
URL	http://hdl.handle.net/10097/36393

氏 名 (本籍) : 小 牧 健一朗

学 位 の 種 類 : 博 士 (歯 学) 学 位 記 番 号 : 歯 博 第 2 4 7 号

学位授与年月日 : 平成 15 年 3 月 24 日 学位授与の要件 : 学位規則第 4 条第 1 項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯学臨床系専攻

学位論文題目 : 哺乳動物細胞新規プロテインホスファターゼ 2C(PP2C η) の単離と機能解析

論文審査委員 : (主査) 教授 渡 辺 誠

教授 田 村 眞 理 教授 島 内 英 俊 教授 高 田 春比古

論 文 内 容 要 旨

プロテインホスファターゼ 2C(PP2C) は、セリン／スレオニンホスファターゼの 4 つの主要なグループの 1 つである。これまでに、哺乳動物細胞において 6 種類の PP2C 遺伝子の存在と、それら遺伝子産物の細胞内での様々な機能が報告されている。一方、近年、ゲノムプロジェクトの進行により未同定の哺乳動物細胞 PP2C 遺伝子の存在が予想された。そこで今回、EST (expressed sequence tag) データベースを用いて、新規 PP2C のクローニングを試み、新規 PP2C(PP2C η) を同定することに成功した。PP2C η は 406 アミノ酸から構成され、既知の PP2C α , PP2C γ とのアミノ酸配列の相同性は低かったが、PP2C に特有な 6 個のモチーフのうち 5 個がアミノ酸配列の中に保存されていた。しかし、PP2C η に存在するモチーフ I は他の PP2C でみられる特徴的なアミノ酸配列を保持していなかった。大腸菌で発現させたりコンビナント PP2C η タンパク質は、Mn²⁺ 依存性のホスファターゼ活性を示したが、PP2C α に比べその比活性は極めて低く、また、他の多くの PP2C で観察される Mg²⁺ 依存性のホスファターゼ活性は示さなかった。ノーザンブロット解析により、PP2C η mRNA の発現は様々なマウスの臓器で認められ、特に、肺、腎および精巣で強い発現が観察された。また、免疫染色により、293IL-1RI 細胞内で発現させた PP2C η が、核および細胞質の両方に分布していることが判明した。さらに 293IL-1RI 細胞に PP2C η を発現させることによって、IL-1 β 依存性の転写因子 AP-1 と NF- κ B の活性化が抑制された。この結果より、PP2C η は IL-1 β 依存性のシグナル伝達の調節に関与することが示唆された。酵母ツーハイブリッド法によって、PP2C η の結合タンパクとして adipocyte lipid binding protein (ALBP) が同定された。PP2C η と ALBP は、哺乳動物細胞内において特異的に結合することから、機能的結合である可能性が示唆された。

以上、今回の研究で、哺乳動物新規 PP2C ファミリーメンバーである PP2C η をクローニングし、PP2C η の構造上の特徴を明らかにするとともに、PP2C η が IL-1 β 依存性シグナル伝達路の制御因子として機能する可

能性を示唆した。

審 査 結 果 要 旨

分子生物学の発展は、医療の分野において、基礎から臨床までを繋ぐトランスレーショナルリサーチの分野を開拓した。個体あるいは細胞の生命活動におけるメカニズムが多数の細胞内シグナル分子の共同作業を探ることで解明され、その結果、癌をはじめ多くの疾患を細胞内シグナル分子の機能に基づいて理解することが可能になろうとしている。シグナル分子の一つであるプロテインキナーゼとプロテインホスファターゼはそれぞれ、タンパク質のリン酸化・脱リン酸化を触媒し細胞内シグナル伝達において主要な役割を果たすことが明らかにされてきた。本論文では、哺乳動物新規プロテインホスファターゼ 2C (PP2C η) の単離と機能解析が行なわれた。PP2C η はアミノ酸の一次構造において、モチーフ I のアミノ酸配列、疎水性領域の存在および核移行シグナルを予想させる領域といった 3 つの特徴を示し、また、ホスファターゼ活性における特徴から他の PP2C とは異なる独特の性質と極めてユニークな基質特異性を持つ可能性が示唆されている。PP2C η の表現型を解明する重要な知見として、PP2C η は核および細胞質の両方での局在が観察され、PP2C η が生理的条件の変化によって、核の内外に移行し機能発現する可能性を持つこと、さらに、PP2C η が IL-1 や TAK1/TAB1 刺激による AP-1 および NF- κ B の転写活性上昇を抑制することが判明し、IL-1 依存性シグナル伝達経路の調節因子の一つであることが示唆された。また PP2C η と ALBP の結合が PP2C η による IL-1 依存性の AP-1 および NF- κ B の活性化の抑制に機能的に関連し得る可能性についても想像される。

以上、本論文で哺乳動物新規 PP2C としてクローニングされた PP2C η の構造と機能について見出された知見より、PP2C η は、今後さらなる研究による展開が興味深い分子であった。将来 PP2C η が関与する細胞内分子機構により生命現象を解明できることが期待され、歯科学を含む生命科学に寄与するところ大であるものと判断し、本論文は博士（歯学）の授与に値するものと認める。